

PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN LIPIDA DARI *Botryococcus braunii* DALAM MEDIA AIR LAUT

Adelyna Merta Sari, Hesty Eka Mayasari, Rachimoellah, Siti Zullaikah
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111
E-mail: prof_rachimoellah@yahoo.com , szulle@chem-eng.its.ac.id

Abstrak—Penelitian ini merupakan studi pertumbuhan dan kandungan lipida dari *Botryococcus braunii* dalam media air laut. Faktor- faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan kandungan lipid *Botryococcus braunii* seperti intensitas cahaya, jumlah nutrisi, dan waktu panen akan dipelajari secara sistematis pada penelitian ini. Bibit *Botryococcus braunii* didapatkan dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Bibit alga sebanyak 200 ml ditanam pada kolam dengan media air laut sebanyak 800 ml dengan salinitas 24,8 ppt pada suhu 29-30°C dan rasio pencahayaan 12:12 (gelap:terang). Kemudian ditambahkan nutrisi Walne dengan jumlah tertentu (0 ml, 1 ml, 3 ml, dan 5 ml/L kultur) serta dikultur pada pencahayaan 5000 dan 10000 lux dengan waktu pemanenan 7 hari dan 14 hari. Setelah dipanen, kemudian kultur alga di centrifuge hingga didapatkan slurry, lalu di oven untuk menghilangkan kandungan airnya, kemudian dihaluskan untuk memperluas permukaan dan selanjutnya diekstraksi dengan 250 ml n-hexane dan selanjutnya di distilasi. Pertumbuhan *Botryococcus braunii* dapat diketahui dengan menggunakan UV-Vis yang nantinya dapat diketahui konsentrasinya. Untuk meningkatkan yield minyak, dilakukan ekstraksi dengan *pre-treatment*, yaitu dengan memasukkan alga kering dan air dengan perbandingan 1:3 ke dalam reaktor, kemudian dipanaskan dalam furnace pada suhu 175°C selama 15 menit. Untuk mengetahui komposisi minyak *Botryococcus braunii*, dilakukan analisa GC-MS. Pertumbuhan *Botryococcus braunii* terbaik dicapai saat kondisi pencahayaan 10.000 lux dengan waktu panen 7 hari dan pemberian nutrisi walne 1 ml/L kultur yaitu 0,47 gram dry alga/L kultur dengan kandungan lipida 0,28 gram/L kultur. *Pre-treatment* dengan air subkritis hanya menaikkan yield lipida sebesar $\pm 1\%$.

Kata kunci : *Botryococcus braunii*, lipid, *pre-treatment*

I. PENDAHULUAN

Kebutuhan bahan bakar dunia semakin meningkat seiring dengan laju pertumbuhan kendaraan bermotor. Tingkat konsumsi terhadap bahan bakar minyak rata-rata naik 12% pertahun [1]. Salah satu sumber bahan bakar minyak di dunia berasal dari minyak bumi, yang semakin lama semakin menipis persediannya serta banyak mencemari lingkungan. Hal ini menyebabkan banyaknya upaya pengembangan di bidang energi alternatif terbarukan dan ramah lingkungan untuk dapat menggantikan peran minyak bumi sebagai sumber energi utama, seperti *geothermal*, biomassa dan energi dari nuklir.

Guna memenuhi tingkat konsumsi terhadap bahan bakar minyak dan mendorong pengembangan serta pemanfaatan energi alternatif terbarukan yaitu bahan bakar nabati, pemerintah mengeluarkan Kebijakan Energi Nasional, termasuk aturan mengenai kewajiban pemakaian biofuel. Biofuel dibuat dengan cara metanolisis minyak atau lemak melalui reaksi transesterifikasi ataupun esterifikasi dengan katalis basa ataupun asam yang menghasilkan metil ester [17].

Biofuel yang sudah dikembangkan di Indonesia berasal dari tanaman kelapa sawit dan tanaman jarak pagar yang produksinya kini baru mencukupi 2% dari total kebutuhan biofuel di Indonesia [17]. Mikroalga dicoba untuk dikembangkan sebagai salah satu alternatif bahan baku pembuatan biofuel mengingat mikroalga adalah salah satu potensi alam Indonesia. Beberapa penelitian terbaru di berbagai negara menunjukkan bahwa mikroalga mempunyai potensi sebagai bahan baku biofuel lebih baik jika dibandingkan dengan tumbuhan dikarenakan faktor harga bahan baku relatif lebih murah yaitu pada umumnya, 30% dari total biaya produksi biofuel [3]. Perbandingan persentase kandungan minyak dari beberapa sumber dan kebutuhan lahan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Perbandingan persentase kandungan minyak dari berbagai sumber dan estimasi kebutuhan lahan untuk memproduksi sebanyak 16.103.453 kl minyak [4]

Jenis Tanaman	minyak (t/ha)	Kebutuhan lahan produksi (ha)
Jagung	172	93.625.000
Canola	446	36.106.000
Kedelai	1190	13.532.000
Jarak	1892	8.511.000
Kelapa	2689	5.989.000
Sawit	5950	2.706.00
Mikroalga ^a	136.900	118.000
Mikroalga ^b	587.000	274.000

^a Asumsi 70% minyak dalam biomassa berat kering

^b Asumsi 30% minyak dalam biomassa berat kering

Dari berbagai jenis spesies mikroalga, *Botryococcus braunii* merupakan spesies mikroalga terbaik sebagai bahan baku biofuel karena memiliki kandungan lipida paling tinggi di antara mikroalga yang lain, yaitu mencapai 75% dari berat keringnya [5]. Sedangkan kandungan lipida pada kelapa sawit sendiri yaitu 22,1-22,2% dan yang cukup bersaing adalah kandungan lipida pada jarak pagar, yaitu mencapai 63% [8]. Pertumbuhan serta kandungan lipida *Botryococcus braunii* dipengaruhi oleh beberapa faktor berikut yaitu: nutrisi [6], suhu [9], intensitas cahaya dan lama pencahayaannya [15], salinitas [14], serta kandungan nitrogen di dalam media tumbuhnya [13].

Upaya untuk meningkatkan kandungan lipida dalam mikroalga, dapat dilakukan dengan cara mengondisikan mikroalga dalam keadaan stress (tekanan) tertentu [14]. Beberapa penelitian yang telah ada, *Botryococcus braunii* ditumbuhkan dengan intensitas cahaya 10.000 lux [20] dan lama pencahayaan 24 jam [19], serta pada salinitas 85 Mm [14] sebagai bentuk stress yang diberikan [19]. Hal ini disebabkan dalam keadaan stress tertentu, mikroalga terstimulasi untuk mensintesis lipida lebih banyak dari keadaan normalnya sebagai bentuk mekanisme mikroalga dalam melakukan perlindungan diri dan adaptasi terhadap kondisi di lingkungan tumbuhnya. Ekstraksi soxhlet merupakan pilihan terbaik untuk sampel kering jika dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya seperti Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer [11]. Agar yield ekstraksi meningkat, dapat dilakukan *pre-treatment* dengan air sub-kritis sebagai metode tambahan sebelum ekstraksi soxhlet [10]. Dari penelitian tersebut, yield minyak dari *activated sludge* yang diekstraksi dengan *pre-treatment* air sub-kritis tiga kali lebih besar dibandingkan dengan ekstraksi soxhlet tanpa *pre-treatment* air sub-kritis.

Penggunaan lipida untuk biofuel dari mikroalga potensial dikembangkan karena Indonesia merupakan negara dengan wilayah perairan yang luas, yaitu sebesar 5,8 juta km² dan wilayah daratannya seluas 1,9 juta km² sehingga 67% wilayah Indonesia berupa perairan [18]. Air laut Indonesia memiliki kandungan garam sebesar 3,5%, di mana terdiri atas unsur garam seperti Cl, Na, SO₄, K, Ca, Br dan Mg sebanyak 99,9% [2]. Diharapkan, unsur-unsur pada air laut tersebut dapat mengurangi penggunaan jumlah nutrisi Walne seperti yang digunakan pada laboratorium Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara untuk membudidayakan *Botryococcus braunii*.

Menurut literatur, saat ini belum ada penelitian mengenai pengulturan mikroalga dalam media air laut. Oleh karena itu pada penelitian ini dipelajari pertumbuhan dan kandungan lipida dari *Botryococcus braunii* dalam media air laut karena Indonesia memiliki potensi laut yang cukup luas. Selain itu, pada penelitian ini juga akan dilakukan metode ekstraksi soxhlet dengan *pre-treatment* dengan air sub-kritis untuk membandingkan yield minyak yang dihasilkan dengan metode ekstraksi soxhlet biasa.

II. URAIAN PENELITIAN

A. Pembibitan

Bibit *Botryococcus braunii* didapatkan dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara yang telah dikultur sebelumnya dalam media air laut dengan konsentrasi sel 100.000-200.000 sel/ml pada salinitas 30 ppt. Air laut yang digunakan sebelumnya disterilasi terlebih dahulu dengan menambahkan 60 ppm klorin dan 30 ppm tiosulfat. Pengulturan dilakukan pada suhu 18°C dengan pencahayaan 1.500-3.000 lux dengan rasio pencahayaan 0:24 (gelap:terang) dan ditambahkan 1 ml walne / L kultur serta vitamin B12 sebanyak 0,007 ppm. Pemanenan dilakukan setelah dikultur selama 7 hari.

B. Kultur Alga

Hal pertama yang dilakukan ialah mensterilasi seluruh peralatan dan media yang akan digunakan dengan menggunakan autoclaf pada 121°C serta mengukur salinitas air laut yang digunakan, yaitu 24,8 ppt. Setelah itu mengatur

pencahayaan dan sistem aerasi kolam pengulturan. Lalu memasukkan 800 ml media kultur, 200 ml strain bibit *Botryococcus braunii* dan nutrisi sesuai variabel ke masing – masing sekat kolam pengulturan dan mengaduk setiap media kultur sampai homogen.

Setelah 7 atau 14 hari penanaman alga, dilakukan pemanenan dan dilakukan proses pemisahan mikroalga dalam kultur dengan menggunakan centrifuge sampai menjadi *slurry* mikroalga. *Slurry* mikroalga yang sudah terbentuk ditambahkan aquades dan melakukan proses pemisahan dengan menggunakan centrifuge kembali untuk menghilangkan kadar garam dalam *slurry* mikroalga. Kemudian, *slurry* mikroalga dituangkan ke dalam gelas arloji dan dipanaskan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 1 jam sampai menjadi *dried* mikroalga (mikroalga kering), menimbang dan mencatat massa mikroalga kering yang didapat. Setelah massa mikroalga dicatat, lalu menumbuk dan menghaluskan mikroalga kering sampai menjadi serbuk mikroalga. Kemudian mengemas serbuk mikroalga ke dalam kertas saring untuk proses ekstraksi.

C. Ekstraksi tanpa dan dengan *pre-treatment*

Ekstraksi dilakukan dengan memasukkan 250 ml *n-hexane* ke dalam *round bottom flask* pada peralatan ekstraksi, lalu menyiapkan alat ekstraksi dan kemudian mengekstrak serbuk alga selama 4 jam untuk setiap variabel, kemudian melakukan distilasi untuk memisahkan minyak mikroalga dengan pelarut *n-hexane*.

Selanjutnya, untuk proses ekstraksi dengan *pre-treatment* air sub-kritis, yang dilakukan pertama kali adalah memasukkan serbuk alga dan air ke dalam reaktor dengan perbandingan 1:3. Kemudian, reaktor dipanaskan hingga suhu 175 °C selama 15 menit. Ketika suhu dalam reaktor naik, tekanan yang semula 1 atm juga ikut naik secara signifikan tergantung dari ratio waktu dan suhu. Kemudian diekstraksi dan di distilasi. Setelah didapatkan minyak mikroalga, kemudian dipanaskan dengan di oven pada 100°C selama 1 jam untuk memastikan tidak ada *n-hexane* yang terikut. Kemudian menimbang minyak mikroalga tersebut, dan kemudian dapat dihitung yieldnya dengan persamaan berikut.

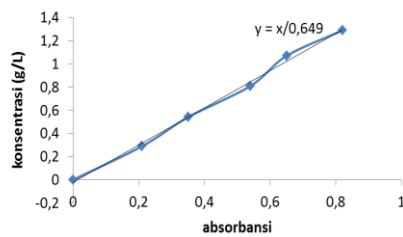
$$\text{Lipid Content (\%)} = \frac{\text{massa lipida terekstrak}}{\text{massa mikroalga kering}} \times 100\% \dots\dots (1)$$

D. Analisa Biomassa

Untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga, dapat dilakukan analisa biomassa dengan menggunakan metode gravimetri, yaitu dengan persamaan berikut.

$$\text{Biomassa} = \frac{\text{massa dry alga (gram)}}{\text{Volume kultur (L)}} \dots\dots\dots (2)$$

Selanjutnya juga dapat dilakukan analisa UV-Vis untuk mengetahui pertumbuhan mikroalga, yaitu dengan mengukur absorbansi kultur *Botryococcus braunii* setiap hari untuk mengetahui konsentrasi sel. Dari penelitian terdahulu (Rismawan, 2010) didapatkan hubungan antara derajat absorbansi dengan konsentrasi sel pada Gambar 1.



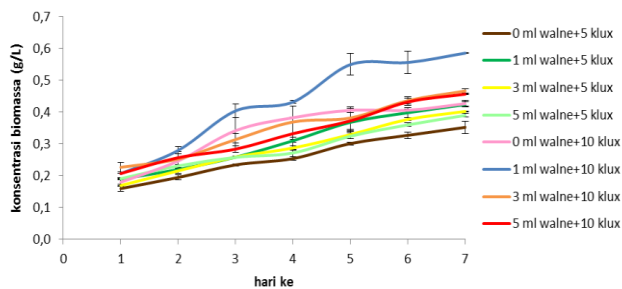
Gambar 1 Hubungan Derajat Absorbansi dengan Konsentrasi Sel

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Laju Pertumbuhan *Botryococcus braunii*

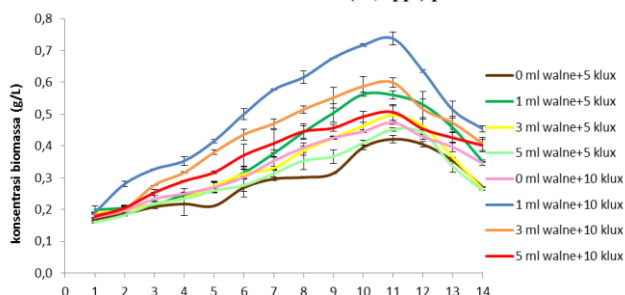
Pertumbuhan *Botryococcus braunii* dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain pengaruh intensitas cahaya, konsentrasi nutrisi, serta waktu panen. Pada penelitian ini digunakan pencahayaan 5 klux dan 10 klux pada salinitas 24,8 ppt dengan rasio pencahayaan 12:12 (gelap:terang). Pengaruh intensitas cahaya dan konsentrasi nutrisi terhadap pertumbuhan *Botryococcus braunii* dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.

Perubahan Konsentrasi Biomassa (24,8 ppt) 7 hari



Gambar 2 : Perubahan Konsentrasi Biomassa pada salinitas 24,8 ppt air laut selama 7 hari pengkultur dengan penggunaan intensitas cahaya 5000 lux dan 10.000 lux pada berbagai penambahan nutrisi

Perubahan Konsentrasi Biomassa (24,8 ppt) pada 14 hari



Gambar 3 : Perubahan Konsentrasi Biomassa pada salinitas 24,8 ppt air laut selama 14 hari pengkultur dengan penggunaan intensitas cahaya 5000 lux dan 10.000 lux pada berbagai penambahan nutrisi.

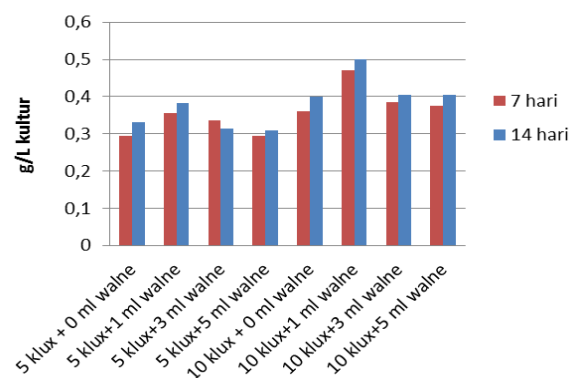
Dari hasil pengamatan dan pengukuran selama 7 hari, didapatkan bahwa konsentrasi biomassa dengan intensitas cahaya ± 10.000 lux lebih tinggi dibandingkan konsentrasi biomassa dengan intensitas cahaya ± 5.000 lux pada setiap pemberian nutrisi yang berbeda. Untuk hasil pengkultur selama 14 hari didapatkan hasil yang sama, yaitu konsentrasi biomassa dengan intensitas cahaya ± 10.000 lux lebih besar daripada konsentrasi biomassa pada pengkultur dengan intensitas cahaya ± 5.000 lux. Penggunaan intensitas cahaya ± 10.000 lux memberikan stress yang lebih tinggi

kepada kultur *Botryococcus braunii* dari pada penggunaan cahaya ± 5.000 lux, namun hal ini tidak membuat konsentrasi biomassa dalam kultur menjadi lebih sedikit. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kultur *Botryococcus braunii* tumbuh optimum pada intensitas cahaya ± 10.000 lux [20].

Pertumbuhan *Botryococcus braunii* juga dipengaruhi oleh banyaknya penambahan nutrisi walne. Dalam penelitian ini, digunakan walne sebanyak 0 ml, 1 ml, 3 ml, dan 5 ml tiap liter kultur alga. Dari Gambar 2 dan 3, tampak bahwa semakin besar nutrisi yang diberikan pada kultur, semakin rendah laju pertumbuhan biomassa di dalamnya kecuali untuk variabel tanpa penambahan nutrisi Walne. Nutrisi Walne diberikan guna memenuhi kebutuhan nutrisi dari *Botryococcus braunii*. Ketiadaan atau kekurangan sumber-sumber nutrisi ini dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Menurut BBPBAP Jepara, mikroalga *Botryococcus braunii*, tumbuh optimum pada konsentrasi nutrisi 1 ml per Liter kultur. Oleh karena itu, pemberian nutrisi berlebih akan membuat pertumbuhan *Botryococcus braunii* menjadi kurang optimal. Semakin besar jumlah nutrisi yang diberikan pada kultur, semakin tinggi stress yang diberikan kepada mikroalga dalam kultur sehingga dapat menyebabkan semakin rendah laju pertumbuhan biomassa di dalamnya.

Pengaruh lain yang mempengaruhi pertumbuhan *Botryococcus braunii* adalah waktu panen. Dalam penelitian ini, kultur alga dipanen setelah 7 hari dan 14 hari. Berikut ini dapat dilihat pengaruh waktu panen terhadap pertumbuhan *Botryococcus braunii* pada Gambar 4.

Perbandingan Biomass Weight (Waktu Panen 7 dan 14 Hari)



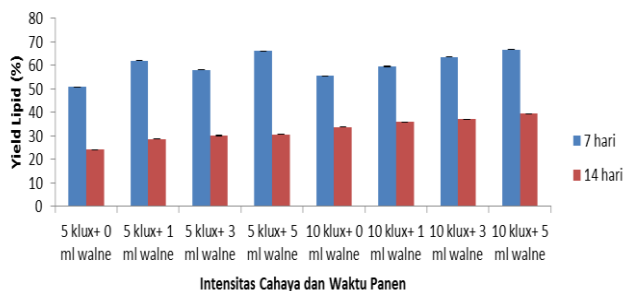
Gambar 4: Perbandingan Dry Weight Biomassa untuk waktu panen kultur 7 dan 14 hari dengan intensitas cahaya 5.000 dan 10.000 lux pada berbagai macam penambahan nutrisi.

Dari Gambar 4, dapat dilihat bahwa konsentrasi biomassa yang dipanen setelah 14 hari lebih tinggi jika dibandingkan dengan waktu panen 7 hari pada pada berbagai macam pemberian nutrisi dan pencahayaan. Hal ini disebabkan pada waktu panen 7 hari *Botryococcus braunii* masih berada dalam fase pertumbuhannya, sehingga masih besar kemungkinan konsentrasi biomassa untuk bertambah pada hari berikutnya. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 3 bahwa 10-11 hari pertama dalam siklus hidup *Botryococcus braunii* adalah fase pertumbuhan.

B. Kandungan Lipid *Botryococcus braunii*

Besaran lain yang diamati dalam penelitian ini selain laju pertumbuhan kultur *Botryococcus braunii* adalah kandungan lipid kultur *Botryococcus braunii*. Beberapa kondisi yang mempengaruhi kandungan lipid *Botryococcus braunii* antara lain intensitas cahaya, jumlah nutrisi, dan waktu panen. Dalam penelitian ini, kondisi pengkulturan dilakukan dalam kolam kultur dengan intensitas cahaya 5.000 lux dan 10.000 lux, penambahan nutrisi walne sebanyak 0 ml, 1 ml, 3 ml, dan 5 ml, serta dipanen pada saat 7 hari dan 14 hari. Pengaruh intensitas cahaya jumlah nutrisi, dan waktu panen terhadap yield lipid *Botryococcus braunii* dapat dilihat pada Gambar 5.

Perbandingan Yield Lipid pada berbagai Variabel Nutrisi Walne

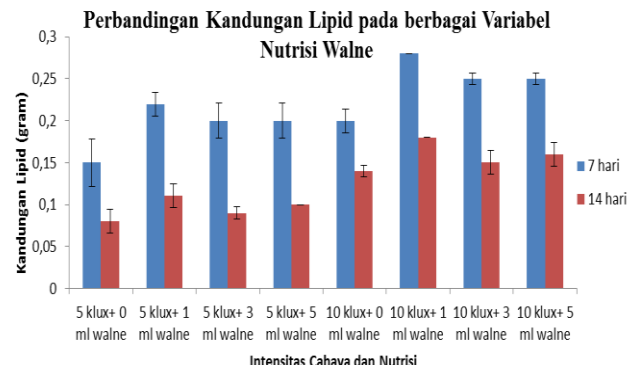


Gambar 5: Lipid content dalam kultur alga dengan berbagai variabel nutrisi pada intensitas cahaya dan waktu panen yang berbeda

Dari Gambar 5 dapat dilihat bahwa pada intensitas cahaya yang lebih tinggi (± 10.000 lux) didapatkan produktivitas lipid yang lebih tinggi daripada pencahayaan dengan intensitas ± 5.000 lux untuk setiap variabel nutrisi dan waktu panen yang berbeda. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa semakin besar intensitas cahaya yang diberikan, maka semakin besar pula kandungan lipid pada mikroalga *Botryococcus braunii* [15].

Selanjutnya, jumlah nutrisi juga berpengaruh terhadap kandungan lipid. Dalam penelitian ini, digunakan walne sebanyak 0 ml, 1 ml, 3 ml, dan 5 ml tiap liter kultur alga. Dari Gambar 5 terlihat bahwa pada pemberian nutrisi Walne sebanyak 5 ml/L kultur menghasilkan yield lipid yang paling banyak, dan saat pemberian walne sebanyak 0 ml/L kultur didapatkan yield lipid yang paling sedikit.

Untuk pengaruh waktu panen, dapat dilihat bahwa untuk waktu pemanenan 7 hari didapatkan yield lipid yang lebih tinggi daripada waktu pemanenan 14 hari. Hal ini dikarenakan saat memasuki hari ke 14, sudah banyak alga yang mati, sehingga produksi lipid tidak maksimal. Sedangkan ketika memasuki hari ke 7, alga sedang memasuki fase pertumbuhan, sehingga yield lipidnya lebih besar.



Gambar 6: Kandungan lipid dalam kultur alga dengan berbagai variabel nutrisi pada intensitas cahaya dan waktu panen yang berbeda

Dari Gambar 6, dapat dilihat bahwa produksi lipid terbanyak oleh *Botryococcus braunii* terjadi pada saat pemberian nutrisi Walne sebanyak 1 ml/L kultur dengan pencahayaan 10.000 lux dan waktu pemanenan 7 hari. Dibutuhkan kondisi stress agar lipid yang dihasilkan mikroalga lebih besar di mana sebagai bentuk adaptasinya yaitu pemberian Walne yang lebih banyak.

Nutrisi diberikan pada mikroalga untuk mendukung proses sintesis lipid dalam tubuhnya. Sehingga tanpa adanya asupan mineral yang cukup dan dibutuhkan untuk proses sintesis lipid, akan menyebabkan produktivitas lipid kultur mikroalga yang dihasilkan dari sintesis lipid oleh tidak dapat berlangsung dengan maksimal. Pemberian nutrisi Walne sebanyak 1 mL/L kultur memberikan konsentrasi biomassa terbesar pada penelitian ini. Nutrisi Walne mengandung komponen fosfat dan zat besi yang dapat meningkatkan produktivitas biomassa [6], serta didukung dengan adanya kandungan vitamin B1 dan vitamin B12 yang dapat meningkatkan metabolisme dari *Botryococcus braunii*. Pemberian nutrisi Walne sebanyak 1 mL/L kultur adalah kondisi optimum karena memberikan konsentrasi biomassa terbesar pada penelitian ini. Sedangkan untuk pemberian nutrisi Walne sebesar 3ml dan 5 ml, konsentrasi biomassa yang dihasilkan lebih kecil dari pada pemberian nutrisi sebanyak 1 ml/l kultur. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan nitrogen di dalam nutrisi Walne yang ditambahkan, di mana pada kondisi kadar nitrogen kecil maka produksi lipida pada sel akan bertambah banyak, begitu pula sebaliknya [12]. Selain itu, dengan penambahan Walne yang lebih besar, maka akan memperbesar salinitas kultur, sehingga memberikan stress yang lebih besar pada kultur. Akan tetapi, kandungan nitrogen dan salinitas yg semakin besar juga dapat meningkatkan produktivitas lipid dari *Botryococcus braunii* [15]. Hal ini menyebabkan yield lipid yang dihasilkan dari penambahan Walne sebanyak 5 ml lebih besar dibandingkan yield lipid untuk pemberian Walne 1 ml dan 3 ml (Gambar 5).

Hasil ini juga sesuai dengan penelitian sebelumnya [7] yang menyatakan bahwa pada pertumbuhan biomassa tertinggi dan kandungan lipid terbesar tidak dicapai pada kondisi yang sama. Pada penelitian tersebut digunakan media modified Chu, dimana pertumbuhan biomassa tertinggi didapat pada saat pemberian modified Chu sebesar 0,75X (X = konsentrasi awal modified Chu) dan kandungan lipid terbanyak didapat saat pemberian 1X modified Chu.

Perbandingan antara Biomass Weight, Lipid Weight, dan Lipid Content dari penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2: Hasil Penimbangan *Biomass Weight*, *Lipid Weight*, dan *Lipid Content* Kultur *Botryococcus braunii* menggunakan waktu pemanenan 7 hari.

Media Kultur	Dry Weight (Gram)	Lipid Weight (Gram)	Lipid Content (%)
0 ml walne + 5 klux	0,3	0,15	51
1 ml walne + 5 klux	0,36	0,22	62
3 ml walne + 5 klux	0,34	0,2	58
5 ml walne + 5 klux	0,3	0,2	66
0 ml walne + 10 klux	0,36	0,2	56
1 ml walne + 10 klux	0,47	0,28	6
3 ml walne + 10 klux	0,39	0,25	64
5 ml walne + 10 klux	0,37	0,25	67

Tabel 3: Hasil Penimbangan *Biomass Weight*, *Lipid Weight*, dan *Lipid Content* Kultur *Botryococcus braunii* menggunakan waktu pemanenan 14 hari.

Media Kultur	Dry Weight (Gram)	Lipid Weight (Gram)	Lipid Content (%)
0 ml walne + 5 klux	0,33	0,08	24
1 ml walne + 5 klux	0,38	0,11	29
3 ml walne + 5 klux	0,32	0,09	28
5 ml walne + 5 klux	0,31	0,1	32
0 ml walne +10 klux	0,4	0,14	35
1 ml walne +10 klux	0,5	0,18	36
3 ml walne +10 klux	0,41	0,15	37
5 ml walne +10 klux	0,41	0,16	39

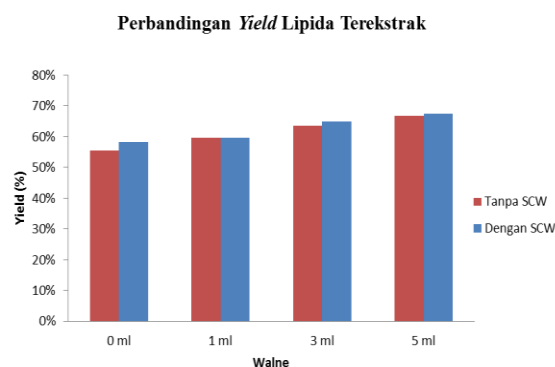
Dari hasil penelitian ini didapatkan kondisi optimum untuk mendapatkan *biomass weight* dan *lipid weight* paling banyak terdapat pada saat pemberian nutrisi Walne sebanyak 1 ml, dengan pencahayaan 10.000 lux dan waktu panen 7 hari. Padahal, yield lipid terbesar dihasilkan oleh pengkulturan dengan penambahan Walne sebanyak 5 ml/L kultur, intensitas cahaya 10.000 lux dan waktu panen 7 hari. Hal ini disebabkan karena pada intensitas cahaya dan waktu panen yang sama tersebut, berat kering biomassa yang dihasilkan oleh kultur dengan pemberian nutrisi Walne sebanyak 1 ml/L kultur jauh lebih besar dibandingkan berat kering biomassa yang dihasilkan dengan penambahan nutrisi Walne sebanyak 5 ml/L kultur.

C. Perbandingan Metode Ekstraksi Soxhlet tanpa dan dengan Pre-Treatment Air Sub-Kritis

Penelitian selanjutnya yang dilakukan dalam penelitian ini adalah membandingkan metode ekstraksi soxhlet dengan tanpa dan dengan pre-treatment air sub-kritis untuk kultur mikroalga dengan intensitas cahaya 10.000 lux selama 7 hari. Pada penelitian ini, metode ekstraksi soxhlet dilakukan menggunakan 250 ml n-heksana sebagai pelarut dengan waktu ekstraksi 4 jam dan pada suhu 70°C. Kemudian, hasil ekstraksi berupa campuran lipid dengan n-heksana dipisahkan dengan proses distilasi pada suhu 70°C. Sedangkan metode ekstraksi dengan *pre-treatment* air sub-kritis, dilakukan dengan cara melarutkan serbuk alga dalam air hingga dengan perbandingan 1:3 dan dipanaskan dalam

reaktor dengan suhu 175 °C selama 15 menit. Kemudian melanjutkan peneitian dengan metode ekstraksi solvent.

Hasil dari penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7 : Perbandingan Yield Lipida Terekstrak tanpa dan dengan *pre-treatment Sub Critical Water* pada berbagai penambahan nutrisi Walne.

Dari Gambar 7 dapat dilihat bahwa metode ekstraksi dengan proses *pre-treatment* air sub-kritis memberikan yield yang lebih besar daripada tanpa *pre-treatment* air sub-kritis. Hal ini disebabkan *pre-treatment* air sub-kritis membantu terpecahnya dinding sel mikroalga sehingga memudahkan proses pengambilan lipid oleh n-heksana pada tahap selanjutnya [16]. Lipid yang berhasil diekstrak dengan *pre-treatment* air sub-kritis tiga kali lebih besar dibandingkan dengan lipid yang diekstraksi tanpa *pre-treatment* air sub-kritis untuk *activated sludge* (Huynh dkk, 2010), sedangkan pada penelitian ini, lipid yang dihasilkan dengan *pre-treatment* air sub-kritis hasilnya tidak berbeda jauh jika dibandingkan dengan tanpa *pre-treatment*. Perbedaan komposisi dinding sel mikroalga dengan *activated sludge* memberikan hasil yang berbeda pula pada penelitian ini. Hal ini juga dapat terjadi karena telah hancurnya dinding sel alga yang disebabkan oleh proses penumbukan serbuk alga sebelum diekstraksi sehingga tidak diperlukan *pre-treatment* dengan air sub-kritis pada penelitian ini karena tidak ada perbedaan yang signifikan.

IV. KESIMPULAN

Pertumbuhan biomassa terbanyak didapat saat pengkulturan dengan cahaya sebesar 10.000 lux dengan waktu pemanenan 14 hari dan pemberian nutrisi walne 1 ml/L kultur dengan jumlah 0,47 gram dry alga/L kultur. Kandungan lipid terbesar didapat saat pengkulturan dengan cahaya sebesar 10.000 lux dengan waktu pemanenan 14 hari dan pemberian nutrisi walne 1 ml/L kultur dengan jumlah lipid 0,28 gram/L kultur. Metode ekstraksi dengan *pre-treatment* menghasilkan yield yang sedikit lebih besar daripada metode ekstraksi tanpa *pre-treatment*, yaitu sebesar $\pm 1\%$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia FTI – ITS.
2. Prof.Dr.Ir.H.M.Rachimoellah,Dipl.EST selaku Kepala Laboratorium Biomassa dan Konversi Energi Kimia serta dosen pembimbing.
3. Ibu Siti Zullaikah ST,MT,Ph.D selaku dosen pembimbing yang telah memberikan banyak

pengetahuan dan bantuan dalam penyusunan laporan skripsi ini.

4. Setiyo Gunawan, ST. PhD selaku Kasie Tugas Akhir Teknik Kimia FTI-ITS.
5. Bapak/Ibu dosen penguji.
6. Seluruh dosen dan karyawan Jurusan Teknik Kimia FTI – ITS.
7. Kedua orang tua kami dan keluarga yang telah banyak memberikan dukungan moral, spiritual, dan material tentunya.
8. Rekan - rekan seperjuangan dari laboratorium Biomassa dan Konversi Energi, dan teman - teman telah yang banyak membantu..
9. Semua pihak lain yang terlibat dalam penyusunan laporan skripsi ini hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Anonim. **Indonesia Energy Outlook 2010**. Pusat Data dan Informasi Energi Sumber Daya Mineral Kementrian Energi dan Sumber Daya Mineral. 2010.
- [2] Ardiani, Rodhiatul. **Pengaruh Salinitas Terhadap Kesuburan Air Laut**. Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya. 2012.
- [3] Ashokkumar, V. dan Rengasamy, R. **Mass culture of *Botryococcus braunii* Kutz. under open raceway pond for biofuel production**. Centre for Advanced Studies in Botany, University of Madras, India, 2011.
- [4] Basmal, Jamal. **Rumput Laut Untuk Biodiesel**. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi. (2010)
- [5] Chisti, Y. **Biodiesel from microalgae**. Biotechnol. Institute of Technology and Engineering, Massey University, New Zealand. 2007.
- [6] Dayananda, C. dkk. **Effect of Media and Culture Conditions on Growth and Hydrocarbon Production by *Botryococcus braunii***. Central Food Technological Research Institute, India, 2005.
- [7] Dayananda, C., dkk. **Autotrophic Cultivation of *Botryococcus braunii* for The Production of Hydrocarbons and Exopolysaccharides in Various Media**. Plant Cell Biotechnology Department, Central Food Technological Research Institute, India, 2006.
- [8] Fatimah, Siti. **Pengolahan Minyak Kelapa Sawit**. Pendidikan Kimia, FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia. 1994.
- [9] Harword, John L., dkk. **Lipid Metabolism In The Red Marine Algae *Chondrus Crispus* and *Polysiphonza Lanosa* as Modified by Temperature**. School of Bioscience, Cardiff University, United Kingdom. 1988.
- [10] Huynh, Lien Huong, dkk. **Extraction and Analysis of Neutral Lipids from Activated Sludge with and without Sub-critical Water Pre-treatment**. Department of Chemical Engineering National Taiwan University of Science and Technology, Taiwan. 2010.
- [11] Manirakiza, P., dkk. **Comparative Study on total Lipid Determination using Soxhlet, Roese-Gottlieb, Bligh & Dyer, and Modified Bligh & Dyer Extraction Methods**. Toxicological Centre, University of Antwerp, Universiteitsplein, Wilrijk. 2000.
- [12] Olguín, Eugenia J., dkk. **The Effect of Low Light Flux and Nitrogen Deficiency on The Chemical Composition of *Spirulina* sp. (*Arthrospira*) Grown on Digested Pig Waste**. Departement of Biotechnology, Institute of Ecology, Mexico. 2000.
- [13] Piorreck, M., dkk. **Biomass Production, Total Protein, Chlorophylls, Lipids and Fatty Acids of Freshwater Green and Blue-Green Algae under Different Nitrogen Regimes**. Institut für Pharmazeutische Biologie, Universität Kiel, Germany. 1983.
- [14] Rao, R. A., dkk. **Effect of Salinity on Growth of Green Microalgae *Botryococcus braunii* and its Constituents**. Central Food Technological Research Institute, India, 2006.
- [15] Ruangsomboon, S. **Effect of Light, Nutrient, Cultivation Time and Salinity on Lipid Production of Newly Isolated Strain of The Green Microalgae *Botryococcus braunii***. Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 2011.
- [16] Tsigie, Yeshitila A., dkk. **In situ biodiesel production from wet *Chlorella vulgaris* under subcritical condition**. Department of Chemical Engineering, National Taiwan University of Science and Technology, Taiwan. 2012.
- [17] Wijaya, Karna. **Biofuel di Indonesia: Prospek, Perspektif dan Strategi Pengembangannya**. Kimia FMIPA, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 2011.
- [18] Yustina. **Keanekaragaman Jenis Ikan di Sepanjang Perairan Sungai Rantau Riau Sumatra**. Biologi FMIPA, FKIP, Universitas Riau, Riau. 2001..
- [19] Zhang, K. dan Kojima, E. **Effect of Light Intensity on Colony Size of Microalga *Botryococcus braunii* in Bubble Column Photobioreactors**. Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba, Japan, 1998.
- [20] Zhang, K. dan Kojima, E. **Growth and Hydrocarbon Production of Microalga *Botryococcus braunii* in Bubble Column Photobioreactors**. Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba, Japan, 1999.